

FACULTE MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N° 8

Protéolyse et dislocation sélective des protéines musculaires et hépatiques au cours du jeûne protéique.

THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE
DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE
ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Le juillet 1942

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

PAR

YVONNE EMOND, NÉE MEIFFREN

née le 4 décembre 1911, à Valenciennes (Nord)

ANCIENNE ASSISTANTE AU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE

Examineurs de la Thèse	{	MM. J. ROCHE, <i>Président.</i>	}	<i>Assesseurs.</i>
		NICLOUX, <i>Prof. Fac. Méd. Strasbourg.</i>		
		MALMÉJAC, <i>Professeur.</i>		
		P. DUBOULOZ, <i>Agrégé.</i>		

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1942

FACULTE MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE
No

Protéolyse et dislocation sélective des protéines musculaires et hépatiques au cours du jeûne protéique.

THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE
DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE
ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Le juillet 1942

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

PAR

YVONNE EMOND, NÉE MEIFFREN

née le 4 décembre 1911, à Valenciennes (Nord)

ANCIENNE ASSISTANTE AU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE

Examineurs de la Thèse	{	MM. J. ROCHE, <i>Président.</i>	}	<i>Assesseurs.</i>
		NICLOUX, <i>Prof. Fac. Méd. Strasbourg.</i>		
		MALMÉJAC, <i>Professeur.</i>		
		P. DUBOULOZ, <i>Agrégé.</i>		

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1942



PERSONNEL DE LA FACULTÉ MIXTE

DE

MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : Lucien CORNIL

Assesseur : F. MERCIER

Doyen honoraire : L. IMBERT

Professeurs honoraires : MOITESSIER, CASSOUTE
OLMER, GAUJOUX, AUBARET, COTTE

Chargés de cours honoraires : TIAN, BRUN.

Secrétaire : J. COMTE

Bibliothécaire : Mme PEROL.

Professeurs :

Anatomie.....	CORSY
Anatomie pathologique et Pathologie expérimentale.....	CORNIL
Bactériologie.....	ROUSLACROIX
Chimie analytique et hydrologie.....	RIMATTEI
Chimie médicale.....	ROCHE
Clinique chirurgicale.....	FIOLLE
Clinique chirurgicale.....	BOURDE
Clinique exotique.....	HECKENROTH
Clinique des maladies nerveuses.....	ROGER
Clinique médicale.....	AUDIBERT
Clinique médicale.....	MONGES
Clinique médicale.....	MATTEI
Clinique médicale infantile.....	GIRAUD
Clinique obstétricale.....	VAYSSIÈRE
Clinique ophtalmologique.....	JAYLE
Clinique Oto-Rhino-Laryngologique.....	BREMOND
Clinique urologique.....	CHAUVIN
Histoire naturelle.....	N...
Histologie.....	ROMIEU
Hygiène générale et coloniale.....	VIOLLE
Médecine légale.....	MOSINGER
Parasitologie.....	JOYEUX
Pathologie chirurgicale.....	MOIROUD
Pharmacodynamie et matière médicale.....	MERCIER
Pharmacie.....	VIGNOLI
Physiologie.....	MALMÉJAC
Physique.....	CHEVALLIER
Thérapeutique.....	POINSO
Professeur sans chaire.....	POURTINET

Chargé de cours :

Clinique dermatologique VIGNE

Agrégés en exercice :

MM. PIÉRI	MM. BRAHIC	MM. IMBERT
CARCASSONNE	FIGARELLA	AUDIER
BERTHIER	PAILLAS	CHOSSON
DUBOULOZ	ARNOUX	DOR
SAUTET	DELPHAUT	RECORDIER
BALANSARD		

Agrégé libre :

M. QUINTARET

Chargé des fonctions d'agrégé :

Chimie médicale..... DERRIEN

Chargés de Cours complémentaires :

Anatomie descriptive et topographique	SALMON
Chimie minérale.....	ARNOUX
Chimie organique.....	DUMAZERT
Clinique des maladies contagieuses.....	PERIOT
Médecine opératoire	DOR
Microbiologie.....	BOYER
Neuro-Chirurgie	ARNAUD
Obstétrique.....	CHOSSON
Pharmacodynamie aux Pharmaciens	DELPHAUT
Psychiatrie	ALLIEZ
Toxicologie	GUILLOT
Clinique gynécologique	FIGARELLA
Clinique chirurgicale infantile.....	R. IMBERT
Clinique stomatologique.....	ACHARD

A MES PARENTS

*En témoignage de mes profonds
sentiments de reconnaissance et
d'affection.*

MEIS ET AMICIS.

A MON MAÎTRE M. LE PROFESSEUR JEAN ROCHE.

DIRECTEUR DU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE COMPARÉE
DE L'ÉCOLE DES HAUTES-ÉTUDES.

En respectueux hommage.

A M. CHRISTIAN DUMAZERT.

CHEF DE TRAVAUX, CHARGÉ DE COURS A LA FACULTÉ
DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE.

En témoignage d'amitié.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549018_0098

AVANT-PROPOS.

Ce travail a été poursuivi dans le Service de Chimie biologique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marseille, plus particulièrement dans un laboratoire dont les élèves s'appliquent à conserver et à honorer le souvenir de Madame Andrée ROCHE. Nous sommes heureux de pouvoir remercier M. le Professeur Jean ROCHE du très grand honneur qu'il nous a fait en nous accueillant pendant la guerre et surtout pour la bienveillance qu'il n'a cessé de nous témoigner au cours de nos études et pendant notre trop court séjour à son laboratoire. Nous n'oublierons jamais tout ce que nous savons lui devoir, et lui exprimons notre profonde reconnaissance, notre vive admiration et notre très respectueux attachement.

C'est un Maître et un ami que nous avons trouvé au laboratoire en la personne de M. Christian DUMAZERT dont nous avons pu apprécier la claire intelligence et la haute culture. Après avoir été pour nous un excellent camarade d'études, il nous a initiée aux travaux de laboratoire avec une patience qui ne s'est jamais démentie, ne ménageant ni ses conseils ni ses encouragements. Nous l'assurons de toute notre gratitude et de notre amitié.

M. le Professeur NICLOUX, de la Faculté de Médecine de Strasbourg, détaché à MARSEILLE depuis 1941, M. le Professeur MALMÉJAC et M. le Professeur DUBOULOZ ont bien voulu accepter de juger ce travail.

Nous sommes très sensible à l'honneur qu'ils nous font et leur exprimons notre très respectueuse reconnaissance.

Nous remercions bien amicalement Mesdemoiselles Gaby VIALATTE et Madeleine ROGER pour l'aide précieuse qu'elles n'ont cessé de nous apporter. Cette collaboration nous laissera le souvenir de l'atmosphère si agréable que crée le travail réalisé au milieu de la plus franche camaraderie. Nous remercions aussi M. Marcel MOURGUE et Mademoiselle Marthe MOUTTE qui nous ont très aimablement prêté leur concours pour certains dosages d'acides aminés.

C'est avec émotion que nous adressons notre pensée reconnaissante à nos Professeurs de la Faculté de Pharmacie de NANCY où nous avons commencé nos études. Nous gardons à ces premiers Maîtres de la grande cité lorraine notre plus fidèle attachement.

Vue d'ensemble sur l'inanition protéique.

Tout être vivant est constitué en partie par des substances azotées fondamentales d'une très grande complexité : les protéides. Ces corps, par leur origine même, dépassent le cadre de la chimie organique. En tant que constituants universels du protoplasme, les protéides sont de la matière vivante, et qui dit vie dit échanges et évolution. Aussi nous apparaît-il normal que la composition des protéides, loin d'être fixe, présente certaines variations dépendant de l'espèce, de l'individu et pour un individu donné, de l'âge et de l'état pathologique. C'est ce que de nombreuses recherches ont permis de considérer comme possible, en particulier celles de A. ROCHE [27] et de J. ROCHE (1).

La plasticité de composition des protéides établie, l'étude de la molécule protéidique semble devoir débiter par l'examen de sa modification éventuelle suivant les fluctuations du métabolisme. Cela ressort nettement du bref aperçu sur le mécanisme du métabolisme azoté que nous allons exposer.

I. — Mécanisme du métabolisme azoté.

A. — *Nature de ce métabolisme.*

Les protéides ingérés, hydrolysés par les enzymes digestifs sont transformés en molécules plus simples :

(1) Pour une bibliographie complète de la question se référer à l'ouvrage d'A. ROCHE : « La Plasticité des Protéines et la Spécificité de leurs caractères » [27].

peptones, polypeptides, acides aminés. Ces derniers, transportés par le sang, sont assimilés par les tissus. Les produits ultimes de la dégradation des protéides se retrouvent dans les urines sous formes d'urée, d'ammoniaque, de créatine, de créatinine, de soufre neutre etc... Ces corps seraient les témoins, selon FOLIN, de deux métabolismes bien distincts.

1. LE MÉTABOLISME EXOGÈNE. — Il se caractérise par l'excrétion en quantité essentiellement variable de déchets azotés tels que : urée, sels minéraux, ammoniaque. Il est étroitement lié à l'alimentation. Chez un adulte sain, recevant une ration normale, toute augmentation de l'apport azoté alimentaire est immédiatement suivie d'un accroissement identique de l'élimination azotée urinaire : c'est la *loi de l'équilibre azoté* de BISCHOFF et VOIT.

L'organisme paraît consommer l'aliment protidique avant les autres, ajustant toujours sa dépense azotée au niveau de ses recettes ; il semble incapable de constituer des réserves protidi-ques.

2. LE MÉTABOLISME ENDOGÈNE. — Il se traduit par le rejet dans les urines d'une quantité constante de créatinine et de soufre neutre.

Il est complètement indépendant de l'alimentation. En effet, abaissons progressivement le taux d'azote du régime d'un animal adulte, nous constatons qu'au dessous d'une certaine limite la quantité d'azote excrétée devient supérieure à celle ingérée. Même privé totalement d'azote, l'organisme continue à en éliminer. Il y a donc une dépense irréductible d'azote et, partant, un besoin azoté minimum. Ce besoin primordial couvert, l'organisme est en équilibre azoté. A ce moment, la quantité d'azote éliminée est égale à celle ingérée (*loi de l'équilibre azoté*).

Ceci est vrai pour un animal adulte. Pour un animal en voie de développement, au *besoin d'entretien* viendra s'ajouter un *besoin de croissance* (néoformation des tissus). Enfin, les expériences de J. ROCHE, M. GUEIT, A. MICHEL et R. PUECH-GLASBERG [31] ont montré l'existence d'un *besoin de réparation* des pertes azotées chez l'adulte, différent du besoin de croissance.

Comment l'animal va-t-il satisfaire ces différents besoins azotés ? D'après ce que nous venons de voir rapidement, il fera normalement appel à un apport extérieur et, le cas échéant, aux réserves présentes dans certains de ses tissus.

B. — *Les différentes sources d'azote.*

1. ORIGINE EXOGÈNE DE L'AZOTE. — La majeure partie de l'azote utilisé par un animal lui est apportée par la nourriture qu'il ingère. Mais toutes les matières protéiques ont-elles la même valeur alimentaire, et sont-elles également aptes à couvrir les divers besoins azotés ?

Deux méthodes ont permis de réaliser de nombreuses expériences à ce sujet : celle des poids et celle des bilans (1).

OSBORNE et MENDEL [23] différencièrent ainsi le besoin d'entretien et celui de croissance. Ils constatèrent que la gliadine, apte à couvrir le besoin d'entretien d'un animal adulte, ne permet pas le développement d'un animal en période de croissance. Par contre, la caséine, l'édestine, la lactalbumine couvrent ce besoin et celui d'entretien ; tandis que la zéine et la gélatine ne couvrent ni le besoin d'entretien, ni

(1) On trouvera la description détaillée de ces méthodes dans l'ouvrage d'E. F. TERROINE [36] et dans la thèse d'A. ROCHE [27].

celui de croissance. Il existe donc des protéines « inaptes » à couvrir les différents besoins. Mais si nous complétons un régime dont le seul constituant azoté soit une protéine inapte, telle que la zéïne laquelle est dépourvue de lysine et de tryptophane, les animaux présentent une croissance normale. Aussi, après de nombreuses observations en est-on arrivé à cette conclusion que le besoin de croissance ne serait en définitive qu'un besoin en « certains » acides aminés.

S'appuyant sur cette hypothèse ROSE et ses collaborateurs [33] ont cherché à couvrir le besoin azoté de croissance par l'absorption d'acides aminés purs. Cette méthode n'a pu être mise en œuvre que récemment, après la découverte de tous les acides aminés indispensables à la croissance, car l'absence ou l'insuffisance de l'un de ceux-ci dans le régime empêche le développement normal de l'organisme. Grâce à son emploi ROSE, COX et MEYER, ont pu préciser qualitativement les besoins en acides aminés du Rat, réunis dans le tableau suivant dû à ROSE (1938) :

Acides aminés indispensables

Lysine
Tryptophane
Histidine
Phénylalanine
Leucine
Isoleucine
Thréonine
Méthionine
Valine
Arginine

Acides aminés non indispensables

Glycine
Alanine
Sérine
Norleucine
Acide aspartique
Acide glytamique
Acide oxyglutamique
Proline
Oxyproline
Citrulline
Tyrosine
Cystine

Il convient d'ajouter que le besoin en méthionine peut être partiellement couvert par de la cystéine ou de la cystine, la méthionine donnant naissance à de la cystine dans les organismes animaux.

Mais de quelle utilité sera dans un régime, la présence d'une protéine inapte ? Les expériences réalisées par TERROINE et Mme MALHER-MENDLER [37] ont démontré le rôle de complément que pouvait jouer une telle protéine dans des régimes aptes à couvrir le besoin d'entretien et de croissance mais quantitativement insuffisants. Ils distinguent ainsi un *besoin indifférencié*, couvert par n'importe quelle protéine même inapte, et un *besoin différencié* exigeant l'apport de certaines protéines efficaces.

ROSE, entreprenant des expériences où le besoin en acides aminés indispensables est couvert par un mélange de corps purs, conclut que 6 p. 100 environ seulement de l'azote total nécessaire à la croissance doit être apporté par les acides aminés indispensables.

Ainsi, en faisant varier la composition et l'abondance des régimes, nous pouvons nous faire une idée de la valeur alimentaire de certaines protéines et différencier quantitativement et qualitativement les divers besoins azotés. Examinons maintenant la seconde source d'azote possible : les propres constituants azotés des tissus.

2. TRANSPORT ENDOGÈNE D'AZOTE. — Nous en trouvons de nombreux exemples tant dans le règne végétal que dans le règne animal. En voici quelques-uns significatifs :

KIESEL et KASTRUBIN [15] ont montré qu'il y a mobilisation des protéines du grain de blé pour le développement de la plantule au cours de la germination.

PFLÜGER observa des mutations du même ordre sur l'*Alytes obstetricans* (crapaud accoucheur). Au mois de mai, pendant cinq semaines, le têtard de cet ani-

mal cesse de se nourrir, la queue très volumineuse au début disparaît peu à peu tandis que l'animal se métamorphose.

Le Saumon au cours du frai fournit aux observations de MIESCHER [20] et GREENE [13] un autre exemple de transport de protéides d'un organe à un autre. Le Saumon mâle ou femelle remonte les rivières pour frayer. Il reste plusieurs mois sans s'alimenter ; ses muscles subissent une véritable fonte tandis que les organes génitaux se développent : les testicules du mâle représentent au début 0,105 p. 100, à la fin jusqu'à 6 p. 100 du poids de l'animal ; les ovaires passent de 0,4 p. 100 du poids total à 20 à 27 p. 100.

Est-il possible de reproduire expérimentalement cet exemple particulièrement typique de perte d'azote ? A. ROCHE [26] pensa que l'inanition protéique réaliserait les meilleures conditions pour obtenir une perte azotée maxima.

II. — Evolution des pertes azotées au cours de l'inanition protéique.

Certains auteurs, CAHN [4] en particulier, ont essayé de modifier la composition du muscle en utilisant soit l'atrophie musculaire provoquée par section nerveuse ou tendineuse, soit le jeûne total.

Aucune de ces deux méthodes ne semble réaliser les conditions les plus favorables à une étude de ce genre. En effet, l'atrophie musculaire par section nerveuse ou tendineuse provoque un déséquilibre cellulaire mais non une mobilisation considérable d'azote tissulaire. Quant aux pertes azotées subies au cours de l'inanition totale, elles sont rapides et relativement faibles ; l'animal meurt de troubles graves non imputables spécifiquement à la privation d'azote ;

si le jeûne constitue une méthode de choix pour l'étude des graisses de réserve par exemple, il ne comporte pas une usure maxima des tissus en ce qui concerne les protéides.

Au cours de son étude comparée au jeûne protéique et au jeûne total, poursuivie sur le Rat blanc, A. ROCHE [26] fit les constatations suivantes :

1. Alors que la durée de survie varie de deux à huit jours pour des rats soumis au jeûne total, elle est de quatre à dix semaines chez des rats inanitiés protéiques.

2. Tandis que la perte de poids est en moyenne de 30 p. 100 du poids initial au cours de l'inanition totale, elle atteint près de 50 p. 100 lors de l'inanition protéique.

3. Enfin la perte azotée qui est en moyenne de 15 p. 100 de l'azote total chez les rats inanitiés varie de 23 à 60 p. 100 chez les rats inanitiés protéiques. Exprimée en poids de tissu protéique frais, la perte azotée représente de 50 à 150 p. 100 de la perte de poids. Cette perte, exceptionnellement élevée, ne peut provenir en totalité de la désintégration des protéines tissulaires. D'autre part nous savons que l'azote non protéique demeure constant et cela dans les conditions les plus diverses. Il semble bien que nous assistions au départ de véritables fragments de molécules protéiques, départ qui se ferait sans altérer la nature de la molécule, ni changer sa teneur en eau de gonflement.

La fonte tissulaire et la perte azotée maxima constatées au cours de l'inanition protéique sont tout à fait comparables à celles observées par MIESCHER et GREENE sur le Saumon au cours du frai. L'inanition protéique s'avère une méthode de choix pour l'étude des protéines des tissus.

Poursuivant ses recherches sur le mécanisme des pertes azotées, A. ROÛHE fit une étude histologique et chimique du muscle chez le rat mort par inanition protéique. Résumons brièvement les résultats obtenus :

1. L'étude histologique du muscle montre chez des animaux inanitiés protéiques une atrophie plus marquée que dans le cas du jeûne total, cette atrophie allant de pair avec une disparition des membranes cellulaires et une pullulation nucléaire intense.

2. L'azote extractif hydrosoluble augmente chez les inanitiés protéiques de même que chez les inanitiés totaux. L'augmentation est de 21 p. 100 pour les premiers, 30 p. 100 pour les seconds.

3. Tandis que le rapport nucléoplasmatique $\frac{P \text{ nucléaire}}{N \text{ total}}$ diminue au cours du jeûne total, il augmente au cours de l'inanition protéique. Cette augmentation est en accord avec la pullulation nucléaire observée lors de l'étude histologique.

4. Enfin, l'analyse des protéides musculaires des rats normaux et inanitiés protéiques montre que chez ces derniers le taux des acides monoaminés est toujours augmenté, celui des acides diamminés diminué ; le taux de tryptophane, lysine, tyrosine s'abaisse très légèrement, tandis que la teneur en cystine, arginine, histidine reste sensiblement constante.

L'examen de ces résultats laisse supposer, comme nous le discuterons plus loin, que l'inanition protéique détermine une véritable dislocation de certaines protéines tissulaires.

Mais, comme l'a signalé CAHN [5], les équilibres partiels se présentent vis-à-vis de l'équilibre protoplasmique général, avec des degrés de liberté plus ou

moins grands. La graisse, le glycogène par exemple, sont engagés dans des équilibres dont les déplacements sont possibles dans une large mesure et compatibles avec un fonctionnement cellulaire normal. Il en va tout autrement pour d'autres composés tels les constituants azotés des tissus qui, même dans les états physiologiques les plus différents, ne semblent devoir varier que d'un faible pourcentage.

III. — Répartition des pertes dans les différents organes.

A. — *Essai de réparation d'une perte azotée importante.*

Jusqu'à ces dernières années il n'existait que très peu de données sur la réalimentation protéique après le jeûne. Divers chercheurs de l'école italienne ZAGAMI, CURATOLO, CAPRARO, puis GIOGLIA et enfin PERETTI, ont poursuivi des expériences pour essayer de combler cette lacune.

Plus récemment A. et J. ROCHE, en collaboration avec DROUINEAU et PASSELAIGUE [28] ont tenté sur une vingtaine d'animaux soumis préalablement au jeûne protéique jusqu'à ce qu'ils aient perdu 20 p. 100 de leur azote initial, une réparation de cette perte azotée. Ces auteurs administrèrent aux animaux en expérience des régimes aptes soit à couvrir le besoin d'entretien, soit à couvrir le besoin de croissance, complétés ou non par certains acides aminés. Ils constatèrent alors une fixation d'azote, mais les animaux continuaient à perdre du poids, la durée de survie étant même diminuée lors de l'ingestion de protides.

Ce problème a été repris par J. ROCHE, M. GUEIT, A. MICHEL et R. PUECH-GLASBERG [31]. Leurs recherches ont porté sur trois protéines pures, la caséine,

l'édestine, l'ovalbumine, et sur une peptone de muscle additionnées ou non de lysine ou de cystine ; ces auteurs ont pu mettre au point un régime permettant la réparation des pertes azotées chez l'adulte et conclure à l'existence d'un *besoin azoté de réparation* différent du besoin de croissance.

Nous pouvons maintenant nous poser la question suivante : quand on parvient à réparer des pertes azotées, y a-t-il reprise générale et simultanée de tous les tissus, ou certains d'entre eux jouent-ils un rôle de réserve ? Mais auparavant examinons quelle peut être la participation des divers organes aux pertes azotées.

B. — *Hiérarchie des organes vis-à-vis de leur participation aux pertes azotées.*

J. ROCHE, DROUINEAU, FOUQUET, PASSELAIGUE [30] étudièrent le comportement du muscle, du foie, des reins, des poumons, du cœur et du cerveau d'animaux normaux, morts d'inanition protéique, soit totale, soit interrompue peu avant la mort par administration de protides.

Le foie est de tous les organes celui qui présente la fonte tissulaire la plus intense : il perd de 60 à 70 p. 100 de son poids, et de 50 à 60 p. 100 de ses protides tant à l'inanition qu'au jeûne protéique ; la similitude de perte dans les deux cas montre que si le foie contient des protéides facilement mobilisables, son usure au cours du jeûne azoté est très faible.

Il n'en est pas de même pour les autres organes, en particulier pour le cœur et le rein qui, conservant une grande activité pendant la durée de l'expérience, subissent des pertes azotées plus fortes au cours de l'inanition protéique qu'au cours du jeûne total ; leur

usure est nettement plus considérable que celle du foie.

Mais tandis que le foie est incapable de reconstituer ses tissus lors de l'ingestion de protides après le jeûne azoté, l'usure tissulaire du cœur et du rein peut être évitée et même réparée à des degrés divers et ceci indépendamment de l'aptitude du régime à couvrir le besoin d'entretien ou celui de croissance ; par contre, la présence dans le régime de certains acides aminés, en particulier de tryptophane, favorise nettement cette réparation.

Il existe donc une véritable hiérarchie des organes quant à leur participation aux pertes pondérales ou azotées, ainsi qu'à leur réparation dans certaines conditions.

RÔLES DE L'AZOTE EXTRACTIF HYDROSOLUBLE. — J. ROCHE, DROUINEAU, FOUQUET et PASSELAIGUE [30] essayèrent également de localiser dans les diverses fractions de l'azote tissulaire : azote protéique, azote extractif hydrosoluble ou lipidique, l'azote retenu au cours de la réalimentation protidique.

Chez tous les animaux ayant subi un amaigrissement important, la teneur en azote protéique augmente, et cela en raison de la disparition des réserves lipidiques et glucidiques ; il en est de même pour l'azote lipidique.

Les modifications les plus importantes et les plus caractéristiques ont été observées sur l'azote extractif hydrosoluble : son taux croît dans le foie et dans le muscle au cours de l'inanition totale ou protéique ; dans ce dernier cas, l'augmentation est plus importante dans le foie que dans le muscle. Lorsque le jeûne azoté est interrompu par l'ingestion de protides, l'augmentation est si considérable dans l'ensemble

des organes qu'elle suffit à expliquer les rétentions azotées observées.

Il est donc vraisemblable que l'azote extractif hydrosoluble joue des rôles physiologiques multiples. Pour A. ROCHE [26] il sert « d'intermédiaire » entre l'azote des tissus et l'azote métabolisé. Il s'établit une sorte d'équilibre que nous pouvons schématiser ainsi :

Protéines tissulaires $\longleftrightarrow$ N extractif $\longleftrightarrow$ acides aminés alimentaires.

Sans doute l'azote extractif hydrosoluble assure-t-il le transport d'acides aminés d'un organe à l'autre, quand l'apport exogène devient insuffisant. En effet, lors de la mort par jeûne azoté, alors que le foie a épuisé ses réserves en protides, une augmentation de l'azote extractif hydrosoluble plus marquée dans le foie que dans le muscle ne peut s'expliquer que par un transport au foie des produits de la protéolyse des autres tissus.

Ceci constituerait une première phase du métabolisme endogène, une seconde phase aboutissant à la formation de corps créatiniques, témoin de la dégradation *in situ* de certains constituants protoplasmiques.

C. — Rôle de réserve du foie.

Le comportement du foie lors du jeûne azoté vient confirmer les expériences de van SLYKE et MEYER [38]. Ces auteurs ont observé que l'injection en quantité importante d'acides aminés est suivie d'une augmentation de l'azote extractif hydrosoluble plus marquée dans le foie que dans le muscle. Le foie serait donc un organe collecteur d'acides aminés, jouant éventuellement le rôle d'organe de réserve.

BERG [2] puis NOËL [22] ont mis en évidence des

granulations protéiques sur des coupes histologiques de foie d'animaux recevant une alimentation carnée.

PUGLIESE [25] et SEITZ [35] ont observé que le foie subit une importante augmentation de volume après une surcharge alimentaire en protides.

Enfin LUCK [17] et GAUTIER [12] ont constaté une augmentation du taux de l'azote total dans le foie d'animaux soumis à un régime analogue à celui utilisé par les auteurs précédemment cités.

L'enrichissement du foie en protéines lors de l'ingestion d'une alimentation carnée est-il l'indice de la formation d'« une » protéine de réserve particulièrement labile, ou bien toutes les protéines du foie s'accroissent-elles également ? Telle est la question que se pose LUCK [17]. Cet auteur se heurte pour obtenir un fractionnement convenable des protéines hépatiques à de nombreuses difficultés : la remarquable facilité avec laquelle ces corps se protéolysent entraîne l'obligation d'opérer toujours dans les mêmes conditions de pH, de temps, de concentration saline. LUCK conclut à l'impossibilité, à l'aide des méthodes actuellement connues, d'isoler une protéine différente chimiquement des autres protéines hépatiques. Si le taux d'une protéine augmente dans le foie c'est qu'elle sert simplement « d'intermédiaire » ; son augmentation est toute temporaire et il s'établit l'équilibre suivant :



Le foie nous apparaît donc comme un organe régulateur.

Récemment les travaux d'A. MICHEL [19] sont venus confirmer ce rôle joué par le foie. A. MICHEL re-

chercha quelle était la part des divers organes dans la réparation des pertes azotées lorsque la réalimentation protéique après une période de jeûne azoté, est assurée par la peptone de muscle, la caséine, l'ovalbumine, l'édestine. Allait-on observer une régénération équivalente et simultanée de tous les tissus, ou bien, le foie jouant le rôle de réservoir d'azote, verrait-on un accroissement de poids de tous les organes précéder celui du foie ? L'expérience démontra l'existence d'une dissociation nette entre le foie et les autres organes étudiés, la récupération des protéines hépatiques ne s'opérant que comme par l'effet d'un « trop plein » des autres organes, en particulier des reins. Les observations faites à ce sujet peuvent se résumer ainsi : Si, à des animaux ayant perdu le tiers de leur azote on administre un régime permettant la réparation des pertes azotées, le foie ne s'enrichit en protéines que si l'organisme a pu réparer la totalité de ses pertes antérieures. Dans le cas contraire, on observe fréquemment que d'autres organes tels que les reins se reconstituent intégralement et même se développent tandis que le foie ne reprend ni son poids initial ni sa teneur initiale en protéines. Le foie semble être un organe renfermant des réserves protéiques ne se reconstituant qu'après la reprise des reins, du cœur, et pouvant se mobiliser avec une extrême facilité.

IV. Modalités de la mobilisation des constituants azotés au cours de l'usure.

Sans doute les réserves hépatiques suffisent-elles à couvrir le besoin d'entretien chez un animal en bon équilibre physiologique, mais elles ne représentent qu'une faible fraction de l'azote mobilisé par un ani-

mal dans certaines conditions telles que le jeûne par exemple. Chez le Saumon au cours du frai, comme chez le Rat soumis expérimentalement au jeûne protéique, on constate une très grosse perte d'azote tandis que le muscle conserve un fonctionnement normal. Plusieurs hypothèses ont été émises pour essayer de préciser la nature de l'azote perdu.

A. — Existence de réserves azotées.

ABDERHALDEN [1] et GREENE [13] pensent qu'il existe dans le muscle une protéine de constitution et une protéine de réserve. Aucun fait expérimental précis n'est venu confirmer cette hypothèse.

TERROINE fait remarquer que l'augmentation du taux de l'azote au cours de régimes déficients la rend peu probable. Mais il semble difficile d'utiliser cette donnée pour aborder le problème des réserves azotées ; en effet, l'augmentation de la teneur en azote est toute relative puisqu'elle va de pair avec des pertes azotées considérables ; elle traduit simplement la disparition de constituants ternaires et aussi le fait que chez des animaux d'une grande maigreur les formations de soutien azoté, pauvres en eau de gonflement constituent par rapport au protoplasme une masse plus grande que chez des animaux normaux.

Mac COLLUM et STEENBOCK [18] au cours d'expériences poursuivies sur le Porc ont montré que les réserves azotées ne sont pas protéiques mais composées par des acides aminés libres.

En accord avec cette manière de voir FOLIN et DENIS [9] pensent que l'azote extractif hydrosoluble constitue la principale réserve azotée mobilisable par l'organisme.

Cette hypothèse est difficilement compatible avec

la constance de la teneur en azote hydrosoluble des tissus quelle que soit la richesse en protides du régime administré. Par ailleurs A. ROCHE [26] a montré que lors de la mort par inanition totale ou protéique le taux de l'azote extractif hydrosoluble était toujours augmenté, contrairement à ce qui devrait avoir lieu si cette forme d'azote constituait une réserve.

Enfin, l'augmentation du rapport nucléoplasmique chez des animaux inanitiés protéiques jointe aux résultats de l'étude histologique du muscle de ces animaux rend peu probable la mobilisation du paraplasme musculaire et semble indiquer au contraire l'utilisation du protoplasme actif.

D'autre part nous venons de voir que LUCK ne parvint pas à isoler dans le foie une protéine différant chimiquement des autres protéines hépatiques, pouvant être spécifiquement une protéine de réserve.

Aucune étude, tant physiologique que chimique n'a donc pu mettre en évidence la présence dans l'organisme de réserves azotées analogues aux réserves ternaires.

B. — *Usure du protoplasme. Théorie de la dislocation sélective.*

Deux hypothèses ont été émises pour expliquer la façon dont se mobilise le protoplasme quand l'apport exogène d'azote ne couvre plus les besoins de l'animal.

Y a-t-il dégradation intégrale des molécules protéiques comme le pense TERROINE, ou bien, selon l'hypothèse de Mac COLLUM, subissent-elles une véritable dislocation sélective.

Si l'on peut établir une différence profonde entre la composition musculaire d'un animal normal et

celle d'un animal inanitié protéique, la première de ces hypothèses devra être abandonnée ; or, cette différence ressort nettement des expériences poursuivies par A. ROCHE, la variation systématique du taux des acides aminés chez des rats inanitiés étant significative à cet égard : dans ce cas, la teneur en tyrosine, tryptophane et surtout en lysine est diminuée, tandis que la teneur en arginine, histidine et cystine demeure normale.

Chez le Saumon au cours du frai, il y a également dislocation sélective du muscle de l'animal avec mise en liberté de l'arginine indispensable à la maturation de ses gonades.

L'hypothèse de Mac COLLUM, en accord avec tous les faits physiologiques connus peut être considérée comme démontrée.

Un protéide tissulaire peut donc perdre une partie de sa molécule sans que celle-ci se désagrège entièrement. Quelle est la fonction qui peut être ainsi libérée ?

KOSSEL [16] suppose qu'il existe dans chaque protéide un noyau, véritable groupement prosthétique de la molécule, constitué principalement par des bases hexoniques, en particulier par de l'arginine.

Cette hypothèse s'appuie sur l'étude de l'ontogénèse tissulaire. KOSSEL se base sur le fait que les protéides du spermatozoïde des poissons sont toujours des protéides basiques : protamines ou histones, très riches en arginine. C'est aux dépens de ces deux types de protéides que se forment par la suite les protéides tissulaires au début du développement embryonnaire. Tout se passe comme si des chaînes de polypeptides se groupaient autour de la molécule de protamine ou d'un de ses fragments pour constituer

des molécules protéiques telles qu'elles existent dans le protoplasme.

Cette hypothèse permet d'expliquer pourquoi des pertes de poids sont observées simultanément à des rétentions d'azote, lors d'ingestion de protides après une période de jeûne protéique. En effet, si au cours de la prépériode de jeûne azoté, des molécules protéiques ont perdu des chaînes polypeptidiques fixées au noyau central, ces molécules doivent pouvoir se reconstituer dans leur intégrité sans modifier leur hydratation, donc sans que le poids augmente notablement.

L'hypothèse de KOSSEL, en accord avec la théorie de Mac COLLUM, vérifiée par l'étude de phénomènes de transport endogène d'azote, est la seule qui permette à l'heure actuelle, d'expliquer pourquoi chaque protéide possède un ensemble de propriétés stables caractéristiques et peut en même temps subir de perpétuels remaniements.

Cette possibilité de remaniements des molécules protéiques dans les organes a été récemment mise en évidence par des résultats acquis grâce à une expérimentation se basant sur l'utilisation des isotopes dans l'étude du métabolisme.

Rappelons brièvement ce que l'on entend par isotope. D'après les théories les plus modernes, l'atome est constitué par un noyau comportant des *protons* chargés positivement et entourés de couronnes d'*électrons* négatifs. A ces deux composants il faut ajouter aujourd'hui le *neutron* qui n'est porteur d'aucune charge, et l'électron positif ou *positon*, charge élémentaire d'électricité positive. On donne le nom de nombre atomique au nombre total d'électrons. Sont dits *isotopes*, les corps simples comportant un nom-

bre différent de neutrons, mais ayant le même nombre d'électrons. Ces corps ont le même nombre atomique, mais un poids atomique différent.

La découverte des isotopes a permis l'édification d'une méthode très élégante permettant de suivre dans le flux alimentaire une molécule ainsi « marquée » au cours de tout son métabolisme. Cette méthode a l'incomparable avantage de n'altérer en rien le fonctionnement biochimique normal, substituant à l'expérimentation déformante la seule observation.

SCHOENHEIMER, RATNER et RITTENBERG [34] expérimentèrent sur quatre rats adultes auxquels ils donnèrent un régime complet additionné de *L*-leucine isotopique contenant à la fois de l'azote lourd ^{15}N et du deutérium ^2H ; ils analysèrent d'une part les excréta et d'autre part les protéines totales de ces animaux sacrifiés à la fin de l'expérience.

Voici quelles ont été leurs principales observations : Environ $\frac{1}{3}$ de l'isotope a été rejeté et on en a retrouvé 57 p. 100 dans les protéines et 8 p. 100 dans l'extractif. Les diverses protéines ont des teneurs en isotope différentes, celles du sérum étant les plus riches, mais celles de tous les organes en renferment, de même que du deutérium. On a isolé de toutes de la leucine avec NH_2 constitué par les isotopes, ce qui traduit probablement le remplacement de la leucine antérieurement présente dans les molécules par celle ingérée postérieurement. A l'exception de la lysine, tous les autres acides aminés, principalement la leucine, les acides aspartique et glutamique, contiennent l'isotope de N, que l'on retrouve également dans le groupement guanidique de l'arginine. Ce dernier fait est un argument en faveur de l'hypothèse suivant laquelle l'arginine des protéines peut participer à l'uréogénèse selon le schéma de KREBS.

Ce continuel échange entre les constituants des molécules protéiques, échange que l'on peut appeler *transpeptidation*, suggère l'idée d'une possibilité de substitution d'un acide aminé par un autre, « mutant » ainsi peu à peu les propriétés de la protéine initiale.

OBJET DU TRAVAIL.

A. ROCHE [26] a montré d'une façon indiscutable l'origine protéique de l'azote perdu au cours d'un régime privé de cet élément. L'animal, pour couvrir sa dépense azotée minima semble se livrer à une véritable dislocation partielle de son protoplasme musculaire ; c'est ainsi que certains acides aminés, surtout la lysine, disparaissent sélectivement, tandis que le taux de certains autres, tels que l'arginine, demeure sensiblement constant.

Poursuivant les recherches d'A. ROCHE sur les constituants azotés du muscle, et les étendant aux protéines du foie, notre but a été d'étudier :

1. Si, chez des animaux morts d'inanition protéique, il était permis de séparer des protéines musculaires ou hépatiques se mobilisant spécifiquement.

2. La possibilité de mettre en évidence des modifications de la composition en acides aminés de celles-ci.

Recherches personnelles.

Les recherches d'A. ROCHE ont porté sur la totalité des protéines musculaires ; nous nous sommes proposé de fractionner celles-ci afin de localiser éventuellement, au cours du jeûne azoté, une mobilisation sélective de certains acides aminés.

Par ailleurs le foie constitue une réserve azotée facilement mobilisable, susceptible de s'accroître ou de s'épuiser suivant la nature des protéines alimentaires et leur abondance dans le régime (GAUTIER, LUCK, ADDIS, POO et LEW). LUCK, par des extractions des protéines du foie à divers pH ou des fractionnements de ces mêmes protéines à diverses concentrations en sels neutres, essaya de caractériser l'une d'elles comme produit de réserve différencié. En séparant les protéines des cellules hépatiques de celles contenues dans la capsule fibreuse servant de trame conjonctive à l'organe, nous avons espéré individualiser une protéine hépatique de réserve.

Nous avons préparé ainsi différentes protéines tissulaires, obtenues à partir d'animaux normaux et d'animaux soumis au jeûne azoté, dans lesquelles nous avons dosé un ensemble d'acides aminés et déterminé le taux des groupements guanidiques avant et pendant l'hydrolyse acide. En effet, comme l'ont observé J. ROCHE et BLANC-JEAN [29] la totalité des groupements guanidiques de l'arginine n'est jamais libre dans les protéines non hydrolysées ; d'autre

part, il était intéressant de savoir s'il existait des groupements guanidiques libres en dehors de ceux de l'arginine.

I. — Marche des expériences et techniques.

A. — *Technique de l'expérimentation physiologique.*

Nos expériences ont été poursuivies sur le Rat blanc. Elles ont porté sur sept rats normaux et sur onze rats du même élevage soumis à l'inanition protéique.

Ce régime apporte en abondance des glucides, des lipides, des sels et des vitamines. Il est constitué de la façon suivante : amidon 70, beurre lavé 30, mélange salin d'Osborne 5, sciure lavée 5, vitamines.

Le beurre est purifié au laboratoire ; on le lave sept fois en le faisant fondre à 40° en présence de six à huit fois son poids d'eau, un séjour ultérieur de quelques heures à la glacière permettant une séparation facile de l'eau de lavage.

La sciure, introduite dans le régime comme élément mécanique provient du bois de hêtre ; elle est tamisée puis mise à macérer 48 heures dans de la soude à 10 p. 100 et lavée pendant quatre jours à l'eau courante. La même opération est renouvelée en substituant l'acide chlorhydrique à 10 p. 100 à la lessive alcaline.

Les vitamines A, B, C et D, sont données sous forme d'extrait de levure, de jus de citron, et d'huile de foie de morue administrée alternativement à la dose de deux gouttes tous les trois jours. La vitamine A se trouve en outre dans le beurre.

Un tel régime ne contient, suivant la qualité de l'amidon employé, que 0,25 à 0,5 mg. d'azote par gramme.

Après une période de diète hydrique de deux jours, destinée à débarrasser complètement le tube digestif de l'azote exogène, les animaux sont soumis au régime ternaire décrit ci-dessus. Ils sont pesés tous les deux jours. Ils conservent jusqu'à la mort une vitalité et une digestion normales. La durée de survie a été pour les animaux mis en expérience de 23 à 40 jours. Les animaux ont été sacrifiés en période agonique, ils avaient alors perdu de 42 à 54 p. 100 de leur poids.

On trouvera dans le tableau I, un résumé de nos observations.

TABLEAU I. — *Principales données pondérales établies sur des Rats soumis à une prépériode d'inanition (2 jours) et à une période de jeûne azoté poursuivi jusqu'à la mort.*

Animal (n°)	Survie (jours)	Poids initial (g.)	Perte de poids	
			(g.)	(p. 100)
C ₁	33	205	87	42,4
C ₂	28	283	120	42,4
C ₃	37	223	103	46,1
C ₄	23	242	127	52,4
C ₅	37	238	108	45,3
D ₁	39	300	165	54,3
D ₂	41	317	146	46
D ₃	39	248	116	46,8
D ₄	36	252	125	49,6
D ₅	40	202	95	47
D ₆	37	200	97	48,5

B. — *Fractionnement des protéines tissulaires.*

1. MUSCLE. — Le muscle des pattes postérieures est broyé au mortier avec du chlorure de sodium cristallisé ajouté en excès, de manière à agir à la fois mécaniquement et comme agent de plasmolyse. Quand la masse a pris une teinte rose uniforme, elle est reprise

par une solution tampon acéto-acétique — ^M (1 à 2 cm³)
15

par g. de tissu) ; une partie des protéines se dissout alors. On répète cette opération autant de fois qu'il est nécessaire pour que la totalité des protéines solubles soit extraite, ce dont on s'assure par la recherche qualitative de celle-ci dans l'extrait incolore (réaction de TANRET).

Les protéines solubles du muscle ainsi séparées, sont coagulées par séjour d'une demi-heure au bain-marie de leurs solutions réunies en un seul échantillon, filtrées à chaud sur une cartouche à extraction, lavées à l'eau bouillante jusqu'à élimination aussi complète que possible du chlorure de sodium et, enfin, pendant six heures à l'alcool dans un appareil de Kumagawa. Le produit délipidé ainsi obtenu est séché à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant et passé au moulin.

Les protéines du muscle insolubles en milieu acéto-acétique à pH = 5,6, sont soumises aux mêmes traitements.

2. FOIE. — En ce qui concerne les protéines du foie, les mêmes opérations permettent de séparer celles des cellules hépatiques et celles de la trame conjonctive de l'organe, lesquelles constituent la plus grande partie de la fraction insoluble. Mais, alors que dans le muscle 70 p. 100 environ des protéines totales ne sont pas extraites à pH = 5,6, le résidu insoluble ne constitue qu'une très faible partie des purées de foie mises en expérience ; aussi nous sommes-nous bornée à étudier les protéines hépatiques solubles dans le tampon acéto-acétique (protéines totales des cellules hépatiques).

C. — *Méthodes de dosage des acides aminés.*

Les protéines musculaires ou hépatiques ont été soumises par portion à l'hydrolyse par divers agents, selon l'acide aminé dont nous envisagions le dosage.

Un premier échantillon de chaque préparation a été hydrolysé par l'acide chlorhydrique à 20 p. 100 en vue du dosage de l'arginine, de la cystine (à l'état de cystéine) et de l'histidine ; un deuxième a été hydrolysé par la soude N en vue du dosage du tryptophane, un troisième par l'acide sulfurique 2 N en vue du dosage de la tyrosine et un quatrième par SO_4H_2 à 20 p. 100 en vue du dosage de l'alanine et de la somme sérine + acide aspartique, de la leucine et de la valine.

Nous allons indiquer le principe des méthodes employées pour doser les différents acides aminés, et nous donnerons une description détaillée de la technique que nous aurons utilisée lorsque celle-ci est encore inédite ; tel est le cas du dosage de l'acide lactique terminant le dosage de l'alanine.

1. ARGININE — GROUPEMENTS GUANIDIQUES LIBRES. — Nous avons dosé les groupement guanidiques avant et pendant l'hydrolyse acide par la méthode de E. JORPES et S. THOREN basée sur la réaction de SAKAGUCHI (coloration rose donnée par l'arginine en présence de naphthol α et d'hypobromite alcalin) et mise au point par C. DUMAZERT et R. POGGI [8].

C'est la technique préconisée par ces auteurs que nous avons suivie comme étant la plus commode. En effet, cette méthode rend possible le dosage de l'arginine dans les hydrolysats protéiques sans isolement préalable par précipitation phosphotungstique ; de plus, le fait d'opérer en milieu glycéroalcoolique sta-

bilise la coloration et permet une précision de ± 2 p. 100. Par ailleurs, SAKAGUCHI, puis WEBER, POLLER, C. DUMAZERT et R. POGGI ont établi que la réaction de SAKAGUCHI est spécifique du groupement guanidique monosubstitué libre $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}-\text{R}$, quelle que soit la nature du radical R. Cette technique convenait parfaitement à l'étude que nous nous proposons d'entreprendre.

La concentration en produit hydrolysé dans les différentes prises d'essai au cours de l'hydrolyse a été déterminée par submicro-Kjeldahl méthode mise au point par C. DUMAZERT [7] permettant de doser des quantités d'N comprises entre 10 et 260 γ avec une précision de 1 p. 100. Les principales modifications apportées à la méthode classique de microkjeldahl sont les suivantes :

1. Destruction de faibles quantités de substances organiques par un volume fixe de 0 cm³,3 d'acide sulfurique mesurés avec précision dans des matras de dimensions réduites.

2. Déplacement par la soude et distillation de l'ammoniaque au moyen d'un petit appareil de Parnas et Wagner permettant la récupération totale de l'ammoniaque dans un volume de distillat aussi faible que possible. Pour obtenir une meilleure rectification de la vapeur d'eau et de l'ammoniac au cours de la distillation on adjoint à l'appareil une petite colonne à pointes de vigreux.

3. Adoption de la méthode iodométrique pour le titrage de l'ammoniaque en raison de sa très grande sensibilité.

2. CYSTINE. — C'est à la méthode de FOLIN et MARENZI [10] que nous avons eu recours, méthode basée sur l'action réductrice de la cystéine vis-à-vis du réactif phosphotungstique de FOLIN (coloration bleue).

En refaisant la courbe étalon pour chaque série de dosage on arrive à une précision satisfaisante au photomètre de PULFRICH.

3. HISTIDINE. — Pour le dosage de l'histidine nous avons suivi la méthode basée sur la réaction de diazotation d'EHRlich et PAULY, décrite par J. BLOCK [3].

La prise d'essai ne doit pas dépasser 3 cm³ et doit contenir de 0,10 à 0,30 mg. d'histidine.

Après avoir neutralisé la prise d'essai par du carbonate de soude saturé et être revenu en milieu très légèrement acide par de l'acide chlorhydrique au 1/10^m, on précipite l'histidine par 1 cm³ de réactif mercurique d'HOPKINS en présence de 2 cm³ d'une solution de borate de soude à 5 p. 100. On centrifuge immédiatement et on lave deux fois le précipité avec 2 à 3 cm³ d'eau distillée. Le précipité qui doit être blanc est ensuite redissout dans une quantité de cyanure de sodium à 5 p. 100 variant de 0,10 cm³ à 0,40 cm³. On ajoute alors 2 cm³ de CO₃ Na₂ saturé et 4 cm³ de réactif de diazotation à 0° (acide sulfanilique + NO₂ Na) et après avoir complété à 50 cm³ dans un ballon jaugé on examine au photomètre de PULFRICH par comparaison avec un témoin.

4. TRYPTOPHANE. — Le tryptophane est détruit par l'hydrolyse prolongée. Nous avons employé pour doser cet acide la méthode de FÜRTH et DISCHE décrite par J. BLOCK [3] : 50 mg. de protéines sont dissous dans 2 cm³ d'NaOH N et 2 cm³ de KOH 0,2 N. On termine le dosage par la colorimétrie de la réaction de VOISENET : coloration bleue-violette donnée par le tryptophane en présence de formol en milieu chlorhydrique (photomètre de PULFRICH).

5. TYROSINE. — Nous avons utilisé pour ce dosage la méthode de FOLIN et MARENZI [10]. M. Pozzi [24]

dans son étude sur la tyrosine la conseille comme donnant les résultats les meilleurs.

Nous avons opéré sur l'hydrolysate sulfurique de 100 mg. de protéines, neutralisé et décoloré par filtration sur du noir animal. La principale cause d'erreur de ce dosage étant due à la présence de tryptophane, nous avons éliminé celui-ci en le précipitant sous forme de combinaison mercurique à l'aide d'une solution de sulfate mercurique à 15 p. 100. Le précipité est soigneusement débarrassé des traces de tyrosine qu'il pourrait contenir par centrifugations successi-

ves suivies de lavages avec de l'acide sulfurique $\frac{N}{10}$.

On termine le dosage par la colorimétrie de la réaction de MILLON (coloration rouge rosé avec un réactif au nitrate mercurique due à la fonction phénol libre de la tyrosine).

6. ALANINE ET SOMME : SÉRINE + ACIDE ASPARTIQUE. La méthode mise au point par HEITZ [14] et appliquée par DESNUELLE [6] à l'étude des protéines, nous a permis de doser spécifiquement l'alanine et la somme sérine + acide aspartique. Voici quel en est le principe : on transforme d'abord les acides aminés de l'hydrolysate protéique en hydroxy-acides correspondants, puis on procède à l'oxydation de ces acides dans des conditions telles que sur une fraction déterminée seul l'acide lactique correspondant à l'alanine donne de l'acétaldéhyde et sur une autre fraction seuls les acides lactique, glycérique et malique, correspondant respectivement à l'alanine, à la sérine et à l'acide aspartique donnent quantitativement de l'acétaldéhyde.

Après désamination par le nitrite de soude selon la méthode de KENDALL et FRIEDMANN, on ajoute à une partie de la solution des hydroxyacides le cin-

quième de son volume d'une solution d'acétate mercurique à 5 p. 100 ; on effectue une première oxydation par le permanganate versé à raison d'une goutte toutes les secondes pendant dix minutes, en présence de sulfate de manganèse en quantité suffisante pour que le milieu en renferme 2 p. 100 ; dans ces conditions l'acide lactique seul donne de l'acétaldéhyde.

En modifiant les conditions d'oxydation par le permanganate (augmentation de la concentration en SO_4 Mn, et de la durée d'oxydation : une goutte toutes les trois à quatre secondes pendant soixante minutes), et en supprimant l'addition d'acétate mercurique on obtient une production quantitative d'acétaldéhyde à partir de l'ensemble alanine, sérine, acide aspartique.

L'acétaldéhyde formé dans les deux cas est dosé colorimétriquement au photomètre de PULFRICH.

Précisons que pour le dosage de l'acide lactique nous avons utilisé un appareil spécialement conçu par C. DUMAZERT (1) pour permettre un dosage d'ordre microanalytique.

Nous donnons ci-après le schéma de cet appareil grâce auquel on peut suivre le trajet de l'acétaldéhyde qui, formé par oxydation permanganique, est ensuite fixé dans une solution de bisulfite de soude imprégnant de petites billes de verre. Les dimensions indiquées permettront facilement la construction de l'appareil. Son fonctionnement est semblable à celui de COTONIO et SCHAFER : on introduit dans le petit ballon la prise d'essai sous un volume maximum de 5 cm^3 et qui doit contenir de 50 à 200 γ d'acide lactique, puis 5 cm^3 de la solution concentrée et sulfurique de sulfate de manganèse, enfin la solution d'acétate mercurique à 5 p. 100. Par ailleurs on a introduit dans le tube T 1 cm^3 de la solution de bisul-

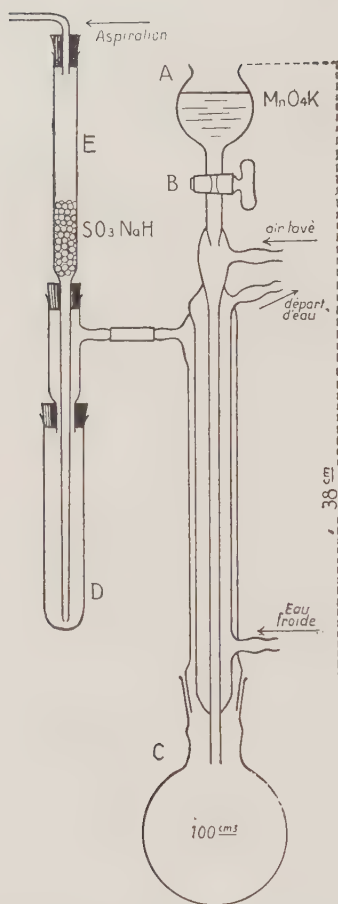


FIGURE 1. — Appareil pour le microdosage de l'acide lactique.

fite de soude à 1 p. 100 maintenue à $\text{pH} = 7$ environ par addition d'acétate de sodium. On adapte le ballon sur son rodage et le tube T sur la bague de caoutchouc. On fait passer un léger courant d'air dans tout l'appareil en s'aidant d'une trompe à vide ; on porte le contenu du ballon à une douce ébullition, à ce moment on ouvre le robinet R de façon à laisser s'écouler la solution de permanganate

$\frac{\text{N}}{200}$ environ, contenue dans l'ampoule supérieure, à raison d'une goutte toutes les cinq secondes. L'opération est terminée lorsque la coloration rose du permanganate persiste. On poursuit encore la distillation pendant quelques minutes ; à ce moment on débouche le tube con-

tenant les perles de verre et on détache le tube T tout en le maintenant en place de façon à recueillir le bisulfite de soude qui s'écoule ; laver 7 fois les billes de verre avec chaque fois 1 cm^3 d'eau distillée et en recueillant ces eaux de lavage dans le tube T.

Dosage colorimétrique de l'acétaldéhyde. — Selon FROMAGEOT et DESNUELLE, ajouter dans le tube une goutte d'une solution limpide d'amidon soluble puis, goutte à goutte et en agitant, une solution d'iode N

— jusqu'à virage au bleu de l'empois d'amidon ; dé-
10 colorer en ajoutant une trace d'une solution d'hypo-
sulfite de soude, porter à 12 cm³, filtrer et sur une
fraction aliquote effectuer la réaction colorée : 10 cm³
de filtrat sont additionnés de 3 cm³ d'une solution
de pipérazine contenant 25 g. de pipérazine dans 75
cm³ d'eau et 1 cm³ d'une solution de nitroprussiate
de sodium à 4 p. 100. Ajouter et colorimétrer.

Nous avons contrôlé le fonctionnement de cet ap-
pareil et construit la courbe d'étalonnage à partir
d'une solution de lactate de Zn purifiée ; le graphi-
que de référence est une droite. Voici sous forme de
tableau les résultats obtenus.

Acide lactique mis en œuvre en γ	Lectures
40	20
80	31
100	36,5
120	42,2
150	51
180	59,2
200	65

7. LEUCINE ET VALINE. — C'est à la méthode de C. FROMAGEOT et P. HEITZ perfectionnée par C. FROMAGEOT et M. MOURGUE [11] que nous nous sommes adressés.

Cette méthode permet de doser simultanément la leucine et la valine dans les hydrolysats protéiques. Elle repose sur le fait que chacun des deux oxyacides correspondant à la valine et à la leucine se comporte au cours de son oxydation chromique dans un mélange comme s'il était seul.

Après transformation des acides aminés en hydroxyacides correspondants par l'action de l'acide nitreux, on soumet une fraction de la solution des hydroxyacides à une oxydation par distillation directe, tandis qu'on fait subir à une autre partie de cette même solution une oxydation sous pression.

On dose colorimétriquement l'acétone obtenue au cours de chacune de ces oxydations à l'aide du photomètre de PULFRICH.

II. — Résultats expérimentaux.

A. — Dosage des acides aminés.

Les dosages ont été effectués sur un mélange de poudres, les quantités de protéines tissulaires données par chaque rat étant trop faibles pour permettre un dosage individuel.

TABLEAU II. — *Teneur pour 100 en divers acides aminés des protéines hépatiques et des protéines musculaires solubles et insolubles à pH = 5,6 dans un mélange tampon acéto acétique M/15.*

Acide aminé dosé	Protéines des cellules hépatiques		Protéines musculaires			
			Fraction soluble		Fraction insoluble	
	Témoins (normaux)	Jeûne azoté	Témoins (normaux)	Jeûne azoté	Témoins (normaux)	Jeûne azoté
Alanine.....	5,24	6,91	6,65	7,19	4,73	4,63
Arginine.....	5,58	5,66	6,28	6,90	7,59	7,44
Cystéine.....	2,21	2,31	1,79	1,90	1,61	1,55
Histidine.....	6,08	5,46	4,72	5,29	4,73	4,50
Leucine.....	15,12	16,50	13,62	16,55	17,10	11,56
Sérine + ac. aspartique..	8,50	4,57	10,35	7,71	8,81	6,55
Tryptophane....	3,52	3,66	3,58	3,54	2,76	2,52
Tyrosine.....	3,06	3,16	3,35	3,22	3,22	3,08
Valine.....	6,76	5,57	6,16	7,73	1,71	5,46

B. — *Arginine. Groupements guanidiques libres.*

Il ne nous semble pas utile de décrire le détail des résultats obtenus dans l'étude des groupements guanidiques des différentes préparations tissulaires ; ces dernières ne présentent entre elles aucun écart important.

Nous avons réuni dans le tableau III le taux des groupements guanidiques libres avant hydrolyse et après 24 heures d'hydrolyse acide pour chacune des préparations tissulaires obtenues à partir de six rats normaux et de six rats soumis à l'inanition protéique, ceci afin de mesurer la marge de variation individuelle.

TABLEAU III. — *Teneur pour 100 en groupements guanidiques libres avant et après hydrolyse des protéines hépatiques et des diverses fractions des protéines musculaires.*

Animal	Protéines des cellules hépatiques		Protéines musculaires			
			Fraction soluble		Fraction insoluble	
	Avant hydr.	Après hydr.	Avant hydr.	Après hydr.	Avant hydr.	Après hydr.
—	—	—	—	—	—	—
<i>Animaux normaux.</i>						
N ₁	3,38	5,43	5,81	7,10	4,82	7,56
N ₂	5,84	6,77	5,96	7,23	4,98	7,10
N ₃	3,57	5,07	3,82	5,22	5,08	7,88
N ₄	4,07	4,50	5,72	6,10	4,51	7,78
N ₅	5,46	6,02	4,66	6,36	—	7,42
N ₆	—	5,70	—	5,69	—	7,92
<i>Animaux soumis à l'inanition protéique.</i>						
D ₁	4,03	5,31	4,45	6,54	6,12	7,79
D ₂	4,09	6,13	5,16	7,15	5,25	7,59
D ₃	2,66	4,30	5,56	7,07	4,95	7,46
D ₄	4,34	5,48	4,57	6,82	4,69	7,14
D ₅	6,86	6,98	5,11	6,68	5,51	7,29
D ₆	4,66	5,76	5,09	7,16	—	7,39

Nos observations résultant de l'étude des groupements guanidiques se résument ainsi :

D'une part, les groupements guanidiques libres avant hydrolyse correspondent à 70-80 p. 100 environ de ceux appartenant à l'arginine totale présente, comme l'ont par ailleurs observé J. ROCHE et G. BLANC-JEAN [29] dans de nombreuses protéines.

D'autre part, la totalité des groupements guanidiques de l'arginine est toujours libérée dans les premières heures de l'hydrolyse acide, mais, contrairement à ce qui se passe pour d'autres protéines, il n'existe pas ici en quantité appréciable des groupements guanidiques en dehors de ceux de l'arginine.

III. — Examen d'ensemble des résultats.

Nous allons dégager du tableau II les principales observations faites au cours de notre travail sur les différentes protéines tissulaires.

A. — *Protéines musculaires.*

Nous comparerons d'abord entre elles les deux fractions de protéines musculaires partie soluble et partie insoluble, tant chez le rat normal que chez le rat inanitié protéique ; puis, nous envisagerons quelles ont été les modifications subies par ces mêmes protéines au cours du jeûne azoté.

1. COMPARAISON DES PROTÉINES SOLUBLES ET DES PROTÉINES INSOLUBLES. — De l'examen du tableau II il ressort que les deux fractions de protéines musculaires n'ont pas une constitution identique. En effet, si le taux en tyrosine, histidine, cystéine reste sensiblement le même, l'arginine voit son taux s'élever dans les protéines insolubles, tandis que le tryptophane, la

somme sérine + acide aspartique, la valine et l'alanine se trouvent en quantité plus forte dans les protéines solubles.

Ces observations sont valables pour les rats normaux comme pour les rats inanitiés protéiques.

2. ETUDE DE LA CONSTITUTION DU MUSCLE APRÈS LE JEÛNE AZOTÉ. — Après une période d'inanition protéique prolongée jusqu'à la mort, nous voyons le taux en certains acides aminés demeurer constant, pendant que d'autres sont sujets à des variations plus ou moins grandes.

La teneur en alanine, arginine, cystéine, histidine est à peu près la même avant et après le jeûne azoté ; quant aux autres acides aminés, leur taux subit des modifications, et ces modifications ont lieu pour les deux fractions des protéines musculaires soit dans le même sens, soit en sens opposé.

C'est ainsi que la somme sérine + acide aspartique, et à un degré moindre le tryptophane et la tyrosine diminuent après l'inanition protéique, et ceci tant dans la fraction soluble que dans la fraction insoluble, pendant que le taux de la valine croît dans les deux fractions.

Quant à la leucine, son taux augmente dans la partie soluble et diminue dans la partie insoluble.

B. — *Protéines hépatiques.*

Nous n'avons pas observé dans ces protéines de différences nettes avant et après le jeûne protéique. Notons seulement un appauvrissement marqué de la somme sérine + acide aspartique, une légère diminution du taux de la valine et un enrichissement en alanine et en leucine.

IV. — Discussion des résultats.

L'examen d'ensemble des données obtenues nous permet de discuter leur signification physiologique et de tirer les conclusions suivantes :

1. Il ne nous a pas été possible de mettre en évidence, ni dans le muscle, ni dans le foie, une protéine de réserve mobilisable au cours du jeûne azoté.

En effet, si les deux fractions des protéines musculaires séparées ont une composition différente, ce qui traduit leur diversité, celle de l'une comme celle de l'autre se modifient pendant l'inanition protéique ; toutes les protéines du muscle sont donc métabolisées simultanément.

Quant aux constituants protéiques totaux des cellules hépatiques, dont la masse diminue d'environ 50 pour 100 pendant la période expérimentale, leur composition est peu différente avant et après un jeûne azoté de longue durée. On peut donc considérer la fraction métabolisée comme pratiquement identique à celle demeurée intacte en fin d'inanition azotée. Cette observation est en accord avec celles de LUCK, pour lequel toutes les protéines extraites du foie à divers pH ou fractionnées à diverses concentrations en sels neutres ont une composition identique, ce qui empêche de considérer l'une d'elles comme pouvant être un produit de réserve différencié.

2. La teneur en alanine, en arginine, en cystine et en histidine des protéines musculaires et hépatiques ne présente pas de variation significative au cours du jeûne azoté. Comme A. ROCHE, LEE et LEWIS, nous avons constaté un léger abaissement des teneurs en tryptophane et en tyrosine des protéines musculaires après jeûne azoté prolongé, mais l'amplitude de ce

phénomène est des plus minimes. Les autres acides aminés voient leur taux augmenter ou diminuer suivant les modalités indiquées ci-dessus (Tableau II).

L'appauvrissement en acide aspartique et en sérine se manifeste de manière constante, comme l'abaissement du taux de la lysine (A. ROCHE), ce qui peut correspondre à la perte simultanée de groupements —COOH libres du diacide et de groupements —NH₂ libres de l'acide diaminé. Sachant que ces deux acides aminés présentent au moins un de leurs groupements polaires libre, on peut penser qu'ils sont perdus avec une très grande facilité au cours de la protéolyse.

Par contre la valine, dont le taux augmente dans les protéines musculaires après jeûne azoté semble être retenue préférentiellement. Il convient de signaler à cet égard que dans la fraction des constituants musculaires insolubles en milieu acéto-acétique à pH = 6,5 un appauvrissement en leucine s'opère parallèlement à l'enrichissement en valine, fait qui, selon une opinion récemment émise par J. ROCHE et M. MOURGUE [32] peut correspondre au remplacement de l'un de ces acides aminés par l'autre dans les molécules protéiques, ces deux corps ayant une structure analogue (groupement isopropylique en bout de chaîne). Les variations des teneurs en leucine et en valine des protéines hépatiques sont justiciables de la même interprétation.

3. Les modifications des protéines musculaires observées ne peuvent pas être systématisées dans le détail, le taux de certains acides aminés tels que la leucine s'élevant dans la fraction soluble et s'abaissant dans la fraction insoluble. Ce fait peut être dû soit

à un phénomène de transport (SCHÖNHEIMER), soit aux particularités de la dégradation de chaque constituant du muscle.

Quant aux protéines hépatiques, seuls leur appauvrissement en sérine et acide aspartique, et à un degré moindre en valine, et leur enrichissement en alanine et en leucine sont significatifs.

Ces faits apportent un nouvel argument en faveur de l'hypothèse de la dislocation sélective des protéines tissulaires au cours de leur utilisation métabolique ; cette dislocation sélective étant probablement une étape préliminaire, éphémère, suivie rapidement par la lyse totale.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

L'étude de la composition en acides aminés des protéines totales du muscle chez le Rat normal ou mort par inanition protéique ont permis à Andrée ROCHE [26] de considérer avec Mac COLLUM que la protéolyse tissulaire s'opère par étapes successives, les molécules protéiques perdant préférentiellement certains acides aminés (lysine) ou polypeptides avant d'être intégralement métabolisées. Depuis lors, les expériences de SCHÖNHEIMER, RATNER et RITTENBERG [34], basées sur l'administration d'acides aminés « marqués », renfermant l'isotope ^{15}N de l'azote, ou du deutérium ^2H , ont démontré que ces corps peuvent être fixés ou perdus par les protéines tissulaires sans synthèse ni dégradation totale de leurs molécules. Nous avons entrepris de nouvelles recherches sur l'existence d'une mobilisation sélective de certains constituants des protéines musculaires et hépatiques au cours du jeûne azoté, afin d'en préciser le mécanisme.

Nous avons étudié la composition en acides aminés de deux fractions de protéines musculaires et hépatiques l'une soluble, l'autre insoluble dans un mélange tampon acéto-acétique M/15 de pH 5,6, chez des rats normaux et des rats par inanition protéique prolongée. Les acides aminés étudiés ont été l'alanine, l'arginine, la cystéine, l'histidine, la leucine, la somme

sérine + acide aspartique, le tryptophane, la tyrosine, la valine.

Les conclusions suivantes se dégagent des faits observés :

1. Les deux fractions des protéines musculaires étudiées ont une composition différente. Le taux de certains acides aminés se modifie dans l'une et dans l'autre après un jeûne azoté prolongé ; aussi est-il probable qu'elles sont métabolisées simultanément. Il n'existe donc sans doute pas de réserve protéique différenciée dans le muscle. Il semble en être de même en ce qui concerne le foie ; en effet, la composition des protéines de cet organe n'est pas profondément modifiée par le jeûne azoté, lequel fait pourtant disparaître près de la moitié de l'azote hépatique.

2. La teneur en alanine, en arginine, en cystine, en tyrosine et en tryptophane des protéines musculaires et hépatiques ne présente pas de variation significative au cours du jeûne azoté, mais celle en d'autres acides aminés augmente ou diminue, suivant des modalités indiquées dans le tableau II (p. 42). L'appauvrissement en certains de ces corps, comme l'acide aspartique et la sérine, indique leur départ préférentiel pendant les stades de la dégradation des protéines tissulaires antérieurs à leur utilisation intégrale. L'enrichissement en d'autres, comme la valine, est l'indice de leur rétention au cours du même phénomène.

3. Les modifications observées ne peuvent être systématisées dans le détail. On remarquera toutefois que la teneur d'une fraction protéique en certains acides aminés (leucine) s'abaisse dans le muscle, tandis que celle de l'autre en le même corps s'élève, fait qui peut tenir soit à un phénomène de transport,

soit aux particularités de la dégradation de chaque protéine musculaire.

L'existence de ces phénomènes apporte néanmoins un nouvel argument en faveur de l'hypothèse de la dislocation sélective des protéines tissulaires au cours de leur utilisation métabolique.

Marseille, le 25 mai 1942

Vu : le Président
JEAN ROCHE.

Vu et approuvé :
Le Doyen :
Pour le Doyen,
L'Assesseur,
F. MERCIER.

Vu et permis d'imprimer

Aix, le 3 juin 1942.

Le Recteur,
P. MARTINO.

BIBLIOGRAPHIE.

1. ABDERHALDEN (E.). — Weitere Beiträge zur Kenntnis von organischen Nahrungsstoffen mit spezifischer Wirkung. XV. Ernährungsversuche mit künstlich dargestellten organischen Nahrungsstoffen und ferner mit auszusammengesetzten organischen Nahrungstoff gewonnenen Bausteinen mit Zusatz von Nutraminen. *Arch. f. d. ges. Physiol.*, 1915, **160**, 511-521.
2. BERG (W.). — Ueber den mikroskopischen Nachweis der Eiweiss-speicherung in der Leber. *Biochem. Ztschr.*, 1914, **61**, 425-433.
3. BLOCK (RICHARD J.). — The determination of the amino-acids, 1 vol., *Burgess Publishing Company*, 1938, Minneapolis, Minn.
4. CAHN (Th.). — Dégénérescence musculaire. Assimilation fonctionnelle et action nerveuse. Contribution à l'étude des équilibres cellulaires. *Thèse de Médecine*, 1926, les Editions Universitaires de Strasbourg, 145 p.
5. CAHN (Th.). — Recherches de physiologie générale sur les variations des équilibres des constituants cellulaires au cours du développement embryonnaire et du jeûne. Constitution et évolution de la molécule des protides. *Thèse de Sciences naturelles*, Paris, 1928, Gaston Doin, édit. IX p.
6. DESNUELLE (P.). — Sur le dosage colorimétrique de l'alanine et de la somme sérine + acide aspartique. Application à la protéine du ferment jaune. *Enzymology*, 1938, **5**, 37-44.
7. DUMAZERT (C.). — Sub-microdosage de l'azote dans la matière organique par la méthode de Kjeldahl. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, **20**, 1405-1418.
8. DUMAZERT (C.) et POGGI (R.). — Sur le microdosage colorimétrique de l'arginine et de divers dérivés guanidiques monosubstitués. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1939, **21**, 1381-1388.

9. FOLIN (O.) et DENIS (W.). — Protein metabolism from the stand point of blood and tissue analysis. *J. of biol. Chem.*, 1912, **11**, 87-95.
10. FOLIN (O.) and MARENZI (A. D.). — Tyrosine and tryptophane determination in one thenthgram of protein. *Journ. of biol. Chem.*, 1929, **83**, 89-108.
11. FROMAGEOT (C.) et MOURGUE (M.). — Dosage de la valine et de la leucine dans les matières protéiques. *Enzymologia* 1941, vol. IX, fasc. **6**, 329-336.
12. GAUTIER (C.). — Augmentation des protéines hépatiques sous l'influence d'une alimentation protéique abondante. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1929, **11**, 168-177.
13. GREENE (C. W.). — Biochemical changes in the muscle tissue of King Salmon during the fast of spawning migration. *J. of biol. Chem.*, 1919, **39**, 435-456.
14. HEITZ (P.). — Nouvelles méthodes de dosage spécifique de quelques acides aminés : Alanine, Valine, Leucine, Sérine et Acide aspartique, *Bosc frères M et L. Rion édit. Lyon*, 1939, 1 vol.
15. KIESEL (A.) et KASTRUBIN (M.). — Ueber Variationen in der Zusammensetzung der Eiweisskörper reifender Weizenkörner, *Zeit f. physiol. Chem.*, 1934, **230**, 216-224.
16. KOSSEL (A.). — The protamines and histones, Londres, 1928, *Longmans Green*. ed., 1 vol. 107 p.
17. LUCK (J. M.). — The liver proteins, pp. 215-229, in *Perspectives in Biochemistry*, 1 vol. Cambridge Univ. press, édit., 1937.
18. Mac COLLUM (E. V.) et STEENBOCK (H.). — *Wisc. agr. exp. sta. res. bull.*, N° **21**, 1912, p. 69, cité d'après MITCHELL et HAMILTON p. 463, voir [**21**].
19. MICHEL (A.). — Participation des divers organes à la réparation des pertes azotées par des protéines aptes à couvrir le besoin de croissance et réserves hépatiques. *Thèse Doct. Pharm.*, Marseille, 1941, 1 vol., 76 p., Declume, édit., Lons-le-Saunier.
20. MIESCHER (F.). — Statistische und biologische Beiträge zur Kenntniss vom Leben des Rheinlaches in Süswasser. *Die histochemischen und physiologischen Arbeiten* von F. Miescher, 1897, Leipzig, 116 p.
21. MITCHELL (H. H.) and HAMILTON (T. S.). — The biochemistry of the aminoacids, 1 vol. 619 p. Ed. *The Chemical Catalog Company*, New-York, 1929.
22. NOËL (R.). — Sur le rôle de la cellule hépatique dans l'élaboration et la mise en réserve des albuminoïdes. *Presse Méd.*, 1923, **14**, 158.

23. OSBORNE (Th. B.), and MENDEL (L. B.). — The comparative nutritive value of certain proteins in growth and the problem of the protein minimum. *J. of biol. Chem.*, 1915, **20**, 351-378.
24. POZZI (M.). — Contribution à l'étude de la tyrosine et de ses dérivés naturels. *Thèse Doct. Pharm.*, Lyon, 1934, 1 vol. 40 p., P. Ferréol éd. Lyon.
25. PUGLIESE (A.). — Etudes sur la réalimentation II. Les matières organiques et inorganiques du foie et des muscles dans les premiers jours de la réalimentation. *J. de Physiol. et de Path. génér.*, 1904, **6**, 193.
26. ROCHE (A.). — Inanition protéique. Réserves azotées et constitution des protéines musculaires. *Thèse Doct. Méd.*, Marseille, 1933, 1 vol. Patissier, édit., Trévoux.
27. ROCHE (A.). — La plasticité des protéines et la spécificité de leurs caractères. Actualités scientifiques et industrielles, série *Exposé de Biophysique*, 1935, 1 vol., Hermann et Cie, édit., Paris.
28. ROCHE (A.), ROCHE (J.), DROUINEAU (S.) et PASSELAIGUE (P.). — Réparation des pertes azotées importantes et couverture des besoins alimentaires en protides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, **20**, 217-251.
29. ROCHE (J.) et BLANC-JEAN (G.). — Sur les groupements guanidiques libres et combinés des molécules protéiques. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1940, **23**, 1006-1013.
30. ROCHE (J.), DROUINEAU (S.), FOUQUET (S.) et PASSELAIGUE (P.). — Réparation des pertes azotées importantes et couverture des besoins alimentaires en protides. II. Sur la participation des divers organes aux pertes azotées et à leurs réparations et sur le rôle physiologique de l'azote extractif des tissus. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, **20**, 720-749.
31. ROCHE (J.), GUEIT (M.), MICHEL (A.) et PUECH-GLASBERG (R.). — Aptitudes de diverses protéines à satisfaire le besoin de croissance et réparation de pertes azotées chez l'adulte. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1941, **23**, 1063-1072.
32. ROCHE (J.) et MOURGUE (M.). — Recherches sur les globines. IV. Teneur en leucine, en valine et en alanine et spécificité des pigments respiratoires (hémoglobines sanguines et musculaires, Erythrocrucorines et Hémocyanines). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1941, **23**, 1329-1338.
33. ROSE (W. C.), KEMMERER (K. S.), WOMACK (M.), MERZ (S. T.), GUNTHER (J. K.), Mac COY (R. H.) and MEYER (C. E.). — The present status of the aminoacid in nutrition. *J. of Biol. Chem.*, 1936, **114**, p. 35.

34. SCHOENHEIMER (R.), RATNER (S.) and RITTENBERG (D.). — Studies in protein metabolism X. The metabolic activity of body proteins investigated with *l* (—) leucine containing two isotopes. *J. of biol. Chem.*, 1939, **130**, 703-732.
 35. SEITZ (W.). — Die Leber als Vorrathskammer für Eiweissstoffe. *Arch. f. d. ges. Physiol.*, 1906, **111**, 309.
 36. TERROINE (E. F.). — Le métabolisme de l'azote. Vol. I., 1 vol., 562 p., Presses univ. édit., Paris, 1933, in coll. *Problèmes biologiques*.
 37. TERROINE (E. F.) et MAHLER-MENDLER (A. M.). — Le métabolisme de l'azote pendant la croissance. *Arch. intern. Physiol.*, 1927, **23**, 43-86.
 38. Van SLYKE (D. D.) et MEYER (G. M.). — The fate of protein digestion products in the body. V. The effects of feeding and fasting on the amino-acid content of the tissues. *J. of biol. Chem.*, 1914, **16**, 231-233.
-

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
AVANT-PROPOS	9
Vue d'ensemble sur l'inanition protéique.....	11
I. — Mécanisme du métabolisme azoté.....	11
A. Nature de ce métabolisme.....	11
1. Le métabolisme exogène	12
2. Le métabolisme endogène	12
B. Différentes sources de l'azote.....	13
1. Origine exogène de l'azote.....	13
2. Transport endogène d'azote.....	15
II. — Evolution des pertes azotées au cours de l'inanition protéique	16
III. — Répartition des pertes dans les différents organes	19
A. Essai de réparation d'une perte azotée importante	19
B. Hiérarchie des organes vis-à-vis de leur participation aux pertes azotées.....	20
Rôles de l'azote extractif hydrosoluble	
C. Rôle de réserve du foie.....	22
IV. — Modalités de la mobilisation des constituants azotés au cours de l'usure	24
A. Existence de réserves azotées.....	25
B. Usure du protoplasme — Théorie de la dislocation sélective	26
OBJET DU TRAVAIL	30

Recherches personnelles	30
I. — Marche des expériences et techniques.....	32
A. Technique de l'expérimentation physiologique	32
B. Fractionnement des protéines tissulaires.	33
C. Méthodes de dosage des acides aminés..	35
1. Arginine	35
2. Cystine	36
3. Histidine	37
4. Tryptophane	37
5. Tyrosine	38
6. Alanine et somme Sérine + Acide aspartique	38
7. Leucine et Valine	41
II. — Résultats expérimentaux	42
A. Dosage des acides aminés.....	42
B. Etude des groupements guanidiques libres	43
III. — Examen d'ensemble des résultats.....	44
A. Protéines musculaires	44
1. Comparaison des protéines solubles et des protéines insolubles....	44
2. Etude de la constitution du muscle après le jeûne azoté.....	45
B. Protéines hépatiques	45
IV. — Discussion des résultats	46
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS	49
BIBLIOGRAPHIE	53

